

38. Гиперспектральная голография эритроцитов в задачах лазерной дифрактометрии

С. Г. Каленков

НТЦ «Оптоэлектроника» Московского политехнического университета, Москва, Россия

Предложен метод верификации параметров моделирования эритроцитов в задачах дифрактометрии клеток крови на основе гиперспектральной голографии. Зарегистрирован набор гиперспектральных голограмм сфокусированного изображения эритроцитов, по которым рассчитаны соответствующие картины дифракции в дальней зоне. Показан существенный вклад фазовой составляющей комплексной амплитуды поля объекта в формировании дифракционных картин. Работа поддержана грантом РФФИ 17-29-03507 офи_м.

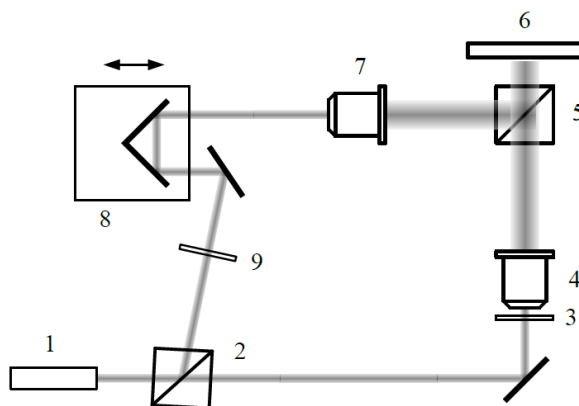
Ключевые слова: Оптика, Гиперспектральная голография, Дифрактометрия.

Цитирование: **Каленков, С. Г.** Гиперспектральная голография эритроцитов в задачах лазерной дифрактометрии / С. Г. Каленков // HOLOEXPO 2019 : XVI международная конференция по голографии и прикладным оптическим технологиям : Тезисы докладов. — М. : МГТУ им. Н. Э. Баумана, 2019. — С. 199–202.

Введение

Анализ крови является широко распространенным инструментом в современной медицинской диагностике. Изменение распределения клеток по размерам в крови человека оказывает влияние на вязкость крови [1]. Недавние исследования показали, что изменение дисперсии (ширины) распределения клеток по размерам на 1 % ведёт к увеличению риска смертности на 14 % для больных сердечно-сосудистыми заболеваниями [2]. Распределение клеток по размерам часто определяют хорошо известным методом лазерной дифрактометрии эритроцитов [3–4]. Это метод заключается в том, что тонкий слой разбавленной суспензии эритроцитов просвечивают лазерным лучом и соответствующую картину дифракции лазерного излучения на клетках крови регистрируют матричным приёмником. Эта картина несет в себе информацию о размерах и формах клеток крови. Достоинством этого метода является возможность быстрого измерения характеристик большого ансамбля эритроцитов (порядка 100 тысяч клеток). При этом процедура измерения и обработки данных занимает всего несколько минут.

Обычно, определение размеров эритроцитов осуществляют по видности дифракционной картины, сопоставляя ее с модельной, рассчитанной на основе представления эритроцита непрозрачным плоским диском [5]. В действительности, с оптической точки зрения эритроцит представляет собой сложный амплитудно-фазовый транспарант. В этой работе мы исследовали амплитудно-фазовые пространственные характеристики эритроцитов (на сухих мазках) методом гиперспектральной голографии с целью уточнения ранее использованной модели.



1 — источник полихроматического излучения, 2,5 — светоделительные кубики,
3 — объект, 4, 7 — микрообъективы, 6 — матричный приемник, 8 — зеркало на пьезостоле,
9 — компенсаторная пластина

Рис. 1. Оптическая схема записи гиперспектральных голограмм сфокусированного изображения

Гиперспектральная голография эритроцитов

Как было отмечено выше, в модели эритроциты представлены набором плоских эллиптических дисков — бинарными действительными числами. В то время как, совершенно очевидно, эритроциты имеют более сложную функцию модуляции проходящего излучения. Для того чтобы установить степень адекватности такого представления, была зарегистрирована серия гиперспектральных голограмм сфокусированного изображения эритроцитов.

Экспериментальное исследование дифракционных картин реальных эритроцитов проведено средствами гиперспектральной голографической микроскопии, предложенной впервые в [6, 7]. Запись гиперспектральных голограмм микрообъектов основана на оптической схеме асимметричного Фурье — спектрометра, в котором в качестве регистрирующего приемника используется ПЗС-матрица. На матрице фиксируется интерференционная картина, полученная наложением опорной и объектной волны, представляющей собой комплексное поле микрообъекта, построенное микрообъективом микроскопа. В опорном плече интерферометра установлено подвижное зеркало, осуществляющее изменение длины пути опорной волны. Синхронно с движением зеркала последовательно во времени производят запись набора экспозиций. В результате в каждом пикселе приемной матрицы регистрируется последовательность интерферограмм, соответствующих различным значениям положения зеркала. В каждом пикселе приемной матрицы регистрируется интерферограмма — интенсивность интерференционного поля, образованного световым полем объектной волны (т. е. светом, прошедшим через объект) и световой волной, отраженной от подвижного зеркала. Такая интерферограмма зависит от длины пути δ подвижного зеркала. Фурье преобразование интерферограммы по переменной δ в каждом пикселе матрицы регистрации дает комплексную ампли-

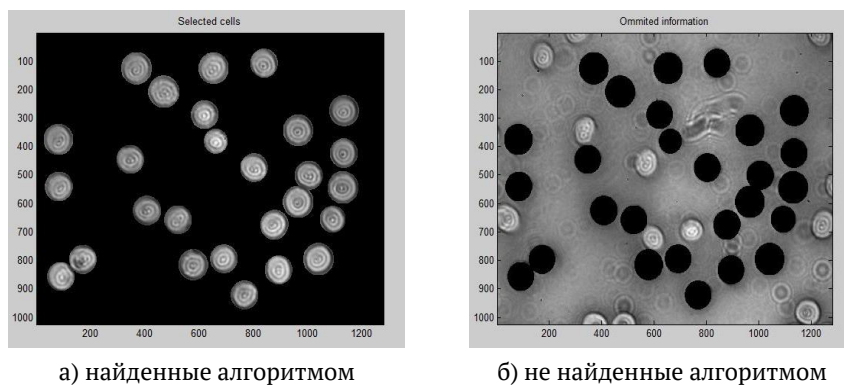


Рис. 2. Изображение эритроцитов

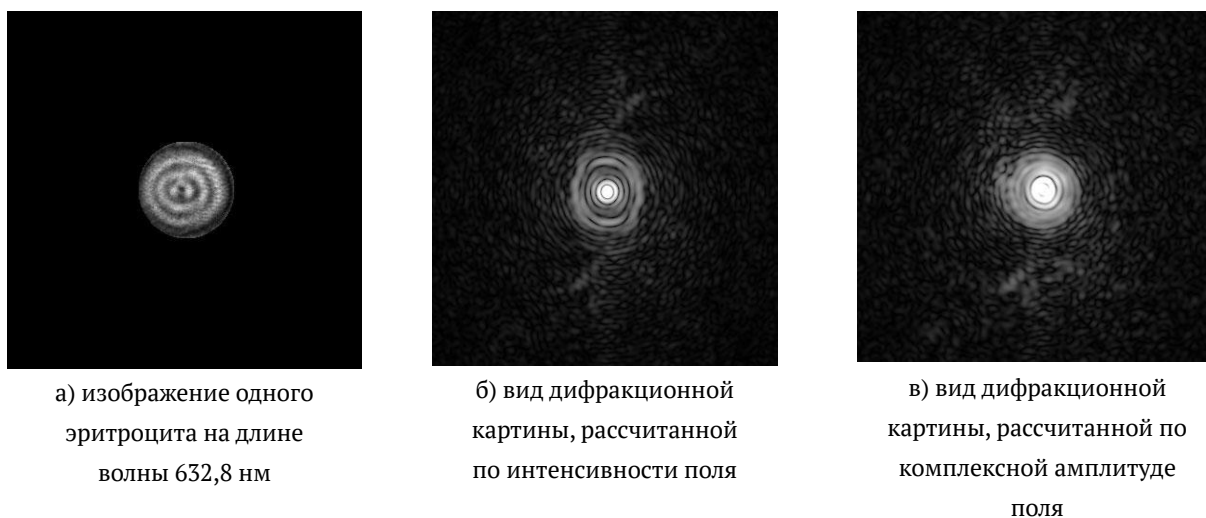


Рис. 3. Изображения отдельных клеток

туду объектного волнового поля [8] на данной спектральной частоте в каждом пикселе матрицы регистрации т. е. гиперспектральную голограмму. Принципиальная оптическая схема гиперспектрального голографического микроскопа приведена на рисунке 1.

Сухой мазок эритроцитов помещали в фокальную плоскость микрообъектива 4. В качестве источника излучения использовали суперконтинуум с фильтрами, выделяющими видимую область спектра от 0,45 до 0,7 мкм. В этом диапазоне был вычислен набор комплексных волновых полей эритроцитов для 140 спектральных компонент. В поле зрения микрообъектива ($60\times$, NA 0,8) попадает несколько десятков эритроцитов. Извлечение участков комплексного поля, содержащих информацию о клетках, выполняли на основе расширенного преобразования Хафа [9]. На рисунке 2 приведен результат распознавания изображения клеток.

Участки поля голограмм, содержащие отдельные клетки, разбиваются на независимые массивы (рисунок 3а). По отдельно взятому полю объекта рассчитывается картина дифракции в дальней зоне. На рисунке 3 б приведено распределение интенсивности картины дифракции, построенное по изображению клетки на определенной длине волны. Такую картину можно рассчитать, от изображения клетки, полученной в обычный микроскоп в свете монохроматического источника. Информация об оптической плотности объекта, содержащаяся в фазовой

компоненте комплексного поля, при этом отсутствует. На рисунке 3 в приведено распределение интенсивности картины дифракции, рассчитанное по комплексному полю объекта на той же длине волны.

Можно видеть, что дифракционные картины, рассчитанные по интенсивности поля и по его комплексной амплитуде поля существенно различаются. Это обстоятельство следует учитывать при моделировании процесса дифракции.

Заключение

Зарегистрированы гиперспектральные голограммы сфокусированного изображения клеток крови на сухих мазках. Участки изображения, содержащие клетки крови, выделены на основе расширенного преобразования Хафа. Расчитаны комплексные поля дифракции отдельных клеток в дальней зоне. Показано существенное различие дифракционных картин, рассчитанных по интенсивности поля и по его комплексной амплитуде. Таким образом, гиперспектральная голография позволяет уточнить параметры эритроцита как модельного объекта.

Список источников

- [1] **Козинец, Г. И.** Исследование системы крови в клинической практике / Г. И. Козинец, В. А. Макарова // М. Триада-Х. — 1997. — Том. 12. — 480 с.
- [2] **Patel, K. V.** Red blood cell distribution width and the risk of death in middle-aged and older adults / K. V. Patel, L. Ferrucci, W. B. Ershler, D. L. Longo, J. M. Guralnik // Archives of internal medicine. — 2009. — Vol. 169. — № 5. — P. 515–523.
- [3] **Юрчук, Ю. С.** Рассеяние лазерного пучка на влажном мазке крови и измерение распределения эритроцитов по размерам / Ю. С. Юрчук, В. Д. Устинов, С. Ю. Никитин, А. В. Приезжев // Квантовая электроника. — 2016. — Том 46. — № 6. — С. 515–520.
- [4] **Никитин, С. Ю.** Рассеяние лазерного пучка на неоднородном ансамбле эллиптических дисков, моделирующих красные клетки крови в эктацитометре / С. Ю. Никитин, М. А. Кормачева, А. В. Приезжев, А. Е. Луговцов // Квантовая электроника. — 2013. — Том. 43. — № 1. — С. 90–93.
- [5] **Никитин, С. Ю.** Связь видности дифракционной картины с дисперсией размеров частиц в эктацитометре / С. Ю. Никитин, А. Е. Луговцов, А. В. Приезжев, В. Д. Устинов // Квантовая электроника. — 2011. — Том 41. — № 9. — С. 843–846.
- [6] **Каленков, Г. С.** Гиперспектральная голографическая Фурье-микроскопия / Г. С. Каленков, С. Г. Каленков, А. Е. Штанько // Квантовая электроника. — 2015. — Том. 45. — № 4. — С. 333–338.
- [7] **Kalenyov, S. G.** Spectrally-spatial fourier-holography / S. G. Kalenyov, G. S. Kalenyov, and A. E. Shtanko // Opt. Express. — 2013. — Vol. 21. — P. 24985–24990.
- [8] **Kalenyov, S. G.** Hyperspectral holography: an alternative application of the Fourier transform spectrometer / S. G. Kalenyov, G. S. Kalenyov, and A. E. Shtanko // J. Opt. Soc. Am. — 2017. — В 34, B49–B55.
- [9] **Yuen, H. K.** Ellipse detection using the Hough transform / H. K. Yuen, J. Illingworth, J. Kittler // Dslash Proc. 4th Alvey Vision Conf. Manchester (31August-2 September) — 1988. — P. 167–174.